DADE BEHRING

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge — DBIL

Cartucho de reagente Flex® para Bilirrubina directa

Fim a que se destina: O método DBIL utilizado no sistema de química clínica Dimension® é um teste para diagnóstico *in vitro* destinado à determinação quantitativa da Bilirrubina directa (conjugada) no soro e plasma.

Resumo: O método da Bilirrubina directa é uma modificação do método de referência de Doumas (uma modificação do procedimento de Jendrassik e Grof).[1,2]

Princípios do procedimento: É formado ácido sulfanílico diazotado a partir da combinação de nitrito de sódio com ácido sulfanílico a pH reduzido. A amostra é diluída em HCl 0.05M. É efectuada uma leitura em branco para eliminar a interferência de outros pigmentos que não a Bilirrubina. Com a adição de ácido sulfanílico diazotado, a Bilirrubina conjugada é convertida em diazo-Bilirrubina, um cromóforo vermelho que absorve a 540 nm e que é medido utilizando uma técnica de ponto final bicromática (540, 700 nm). É utilizada uma correcção através de branco de amostra.

Bilirrubina conjugada + ácido sulfanílico diazotado ——————> cromóforo vermelho (absorve a 540 nm)

Reagentes

Poços[a]	Forma	Ingrediente	Concentração[b]
5	Líquido	Nitrito de sódio	0.5%
6	Líquido	Ácido cloridrico	0.5M
7–8	Líquido	Ácido sulfanílico	0.45%
		Ácido clorídrico	1.09%

a. Os poços são numerados consecutivamente a partir da extremidade larga do cartucho.
b. Valor nominal por teste no fabrico.

Precauções: As cuvetes usadas contêm líquidos biológicos humanos; manipule-as com o cuidado adequado para evitar o contacto com a pele e a ingestão.[3]

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

Preparação do reagente: Todos os reagentes são líquidos e estão prontos a serem utilizados.

Instruções de armazenamento: Armazenar a 2 - 8°C.

Validade: Consultar a embalagem para obter a data de validade de cada um dos cartuchos de reagentes não abertos. Os poços dos cartuchos selados ou não hidratados no instrumento permanecem estáveis durante 30 dias. Depois de os poços terem sido perfurados pelo instrumento, permanecerão estáveis durante 48 horas.

Colheita de amostras: Para as amostras analisadas por este método podem ser utilizados os procedimentos normais para a colheita e armazenamento de soro e de plasma.[3] A bilirrubina é extremamente fotosensível. Uma redução de 50% de Bilirrubina em 1 hora foi registada para amostras expostas directamente à luz solar. Para uma estabilidade óptima, as amostras de soro devem ser armazenadas no escuro e a baixa temperatura.[4]

*Substâncias interferentes conhecidas

As substâncias seguintes não exercem qualquer efeito mensurável sobre o método da DBIL, nas concentrações indicadas:

Acetaminofeno	200 µg/mL [1323 µmol/L][c]
Ampicillina	20 µg/mL [57 µmol/L]
Diazepam	20 µg/mL [70 µmol/L]
Digoxina	20 ng/mL [25.6 nmol/L]
EDTA	200 mg/dL [2 g/L][d]
Etanol	800 mg/dL [174 mmol/L]
Gentamicina	16 µg/mL [29.4 µmol/L]
Lipémia	600 mg/dL [6.77 mmol/L] triglyceride
Heparina de Litio	280 U/mL [280000 U/L][d]
Nortriotilina	1000 ng/mL [3797 nmol/L]
Fenobarbital	80 µg/mL [344 µmol/L]
Fenitoina	30 µg/mL [119 µmol/L]
Oxalato de Potássio	500 mg/dL [5 g/L]
Salicilato	100 mg/dL [7.24 mmol/L]
Fluoreto de Sódio	400 mg/dL [4 g/L][d]
Teofilina	100 µg/mL [555 µmol/L]

- O efeito de vários níveis de hemoglobina no resultado de bilirrubina directa é:

(Hemoglobina) mg/dL	[monómero] [mmol/L]	resultado (DBIL) mg/dL [µmol/L]		
0	[0]	0.3 [5]	3.2 [55]	4.3 [74]
50	[0.03]	0.3 [5]	3.1 [53]	4.1 [70]
100	[0.06]	0.2 [3]	2.9 [50]	3.9 [67]
250	[0.15][e]	0.2 [3]	2.8 [48]	3.4 [58]
500	[0.31][e]	0.1 [2]	2.3 [39]	2.8 [48]

- Os tubos de colheita Corvac® e SST® não afectam a actividade do método DBIL.
- Cada laboratório deverá determinar a aceitabilidade dos tubos de colheita de sangue e dos produtos de separação do soro que utiliza. Podem existir variações nestes produtos entre fabricantes e, por vezes, entre lotes do mesmo fabricante.

Corvac® é uma marca comercial registada da Monoject, Divisão da Sherwood Medical, St. Louis, MO.
SST® é uma marca comercial registada da Becton-Dickinson, Rutherford, NJ.
c. Sistema Internacional de Unidades (Unidades S. I.) entre parêntesis.
d. A concentração normalmente encontrada em tubos de colheita de sangue.
e. Uma mensagem de HEMOGLOBINA será apresentada na tira de registo depois do resultado TBIL para indicar que a hemoglobina é >100 mg/dL [0.06 mmol/L] e que causará interferência com o resultado de DBIL nessa amostra.

Procedimento: Para a execução do teste DBIL é necessário o cartucho de reagente Flex® DBIL, N° de catálogo DF25A. Este teste é efectuado no sistema de química clínica Dimension®, depois de o método ter sido calibrado (consultar o Material de Referência na secção Calibração).

Passos do teste

A recolha da amostra,[f,g] dispensação do reagente, agitação, processamento e impressão dos resultados são realizados automaticamente pelo sistema Dimension®. Para obter pormenores sobre este processamento, consultar o manual do sistema Dimension®.

f. O recipiente da amostra (se não for um tubo primário) deverá possuir um volume suficiente para acomodar o volume da amostra e um volume morto. Não é necessário um enchimento preciso do recipiente.
g. Poderá ser programado um volume de amostra alternativo de 13 µL; consultar o Guia do Operador para a utilização do volume de amostra alternativo.

Condições de teste

- Volume da amostra: 31 µL, (13 µL)[g]
- Volume do reagente 1: 30 µL
- Volume do reagente 2: 60 µL
- Volume do diluente: 324 µL
- Temperatura do teste: 37° C
- Comprimento de onda: 540 e 700 nm
- Tipo de leitura: ponto final bicromático

Calibração

O procedimento geral de calibração encontra-se descrito no manual do sistema Dimension®.

A informação que se segue deve ser tida em conta durante a calibração do método da Bilirrubina directa:

Intervalo do ensaio:	0.00–20.00 mg/dL [0–342 µmol/L]
Material de Referência:	Calibradores secundários, tais como TBIL/DBIL calibrador (No. de catálogo DC17)
Níveis de calibração sugeridos:	1.00, 10.00, 20.00 mg/dL [17, 171, 342 µmol/L]
Esquema de calibração:	Três níveis em triplicado
Frequência da calibração:	Cada lote novo de cartucho de reagente. De 3 em 3 meses para qualquer lote individual
Coeficientes Atribuídos:	Volume de amostra padrão = 31 µL
	C_0 0.000
	C_1 0.0331
	Volume de amostra alternativo = 13 µL
	C_0 0.094
	C_1 0.074

Procedimento de ajuste de C_0 DBIL

1. Efectuar e avaliar uma calibração de três níveis conforme as directrizes actuais de calibração utilizando o calibrador TBIL/DBIL Dimension® (N° de catálogo DC17) e incluindo materiais de controlo de qualidade.
2. No caso dos resultados de controlo de qualidade se encontrarem fora dos intervalos estabelecidos ou se vários resultados normais de DBIL de pacientes forem mais elevados do que os valores de TBIL, realizar três testes de DBIL a partir de um copo de amostra contendo água purificada ou desionizada como amostra.

   No ecrã "INTRODUZIR DADOS DE AMOSTRA"
   seleccionar
   Modo: COPO DE AMOSTRA
   Prioridade: XQC
   Fluido: 3° QC ou SoroQC3
3. Será impresso um relatório com a **média**, DP e CV.
4. O novo (C_0) é calculado subtraindo a **média** do actual (C_0). [Não esquecer de incluir o sinal menos (negativo) ao subtrair um número negativo do original (C_0)].

   Exemplo: C_0 actual = -0.150
   média da amostra de áqua em branco = -0.110
   Novo C_0 = (-0.150) - (-0.110)
   Novo C_0 = -0.040
5. Introduzir o **novo C_0** no ecrã "PARÂMETRO DE MÉTODO" com o sinal negativo ou positivo correcto.

   A partir do "MENU DE OPERAÇÃO" premir
   F6: CONFIG SISTEMA
   F1: PARAM MÉTODO
   Introduzir a palavra-passe e premir a tecla do método DBIL.
   Colocar o cursor no campo C_0 do lote de reagente calibrado.
   Introduzir o **novo C_0** e premir ENTER. Premir
   F4: STORE PARAM's
6. Processar o material de CQ em duplicado para avaliar a exactidão dos resultados após novo ajustamento de C_0.

Controlo da Qualidade

Pelo menos uma vez por dia, analisar soluções com dois níveis de um material de controlo da qualidade, com concentrações conhecidas. Para obter mais pormenores, consultar o manual do sistema Dimension®. O resultado obtido deverá encontrar-se dentro dos limites definidos pela variabilidade do sistema no dia a dia, avaliada pelo laboratório do utilizador. Se os resultados se situarem fora dos limites aceitáveis do laboratório, seguir o procedimento da secção de resolução de problemas apresentado no manual do sistema Dimension®.

Pode existir uma avaria do sistema se for observada a seguinte precisão de 5 testes no volume de amostra padrão (31 µL):

Concentração	Desvio padrão
0.6 mg/dL[10.3 µmol/L]	>0.06 mg/dL [1.03 µmol/L]
16.8 mg/dL [287 µmol/L]	>0.34 mg/dL [5.8 µmol/L]

***Resultados:** O instrumento calcula e imprime automaticamente a concentração de bilirrubina directa em mg/dL [mmol/L] utilizando o esquema de cálculo ilustrado no manual do sistema Dimension®.

Os resultados deste teste devem sempre ser interpretados em conjunto com o histórico médico do doente, estado clínico e outros dados de interesse.

Limitações do procedimento

Resultados:	**>20 mg/dL [342 µmol/L]**
Diluições manuais:	Para obter resultados que se encontrem dentro do intervalo do ensaio, efectuar as diluições apropriadas com Água Purificada. Introduzir o factor de diluição. Voltar a efectuar o ensaio. A leitura do resultado é corrigida para a diluição.
Auto-diluição (AD):	Consultar o manual do sistema Dimension®.

O sistema de emissão de relatórios do instrumento contém mensagens de erro para prevenir o operador de avarias específicas. Qualquer tira de registo que contenha tais mensagens de erro deve ser retida para seguimento. Consultar o manual do sistema Dimension®.

Intervalo de Referência:[5] 0.00-0.30 mg/dL [0–5 µmol/L]

Cada laboratório deverá estabelecer o seu intervalo de referência para a bilirrubina directa, conforme é executado o procedimento no sistema Dimension®.

Características específicas de desempenho[h]

Reprodutibilidade[i]

Material	Média mg/dL [µmol/L]	Desvio padrão (%C.V.) Intra-ensaio	Intervalo diário
Gilford pediátrico Controlo de Bilirrubina	4.8 [82]	0.02 [0.3] (0.5)	0.21 [3.6] (4.4)
Pool de Soro [j]	4.97 [85]	0.03 [0.5] (0.54)	0.23 [4] (4.7)

Correlação

Estatistica de regressão

Método Comparativo	Declive	Intersecção mg/dL [µmol/L]	Correlação Coeficiente	n
Método de CBIL no analisador clínico discrete clinical discreto aca® [k]	0.978	0.06 [1]	0.992	70
Volume da amostra padrão versus reduzido [l]	0.984	0.03 [0.5]	0.999	63[m]

h. Todos os testes das características do desempenho foram efectuados após a realização das verificações normalmente recomendadas do controlo de qualidade do equipamento (consultar o manual do sistema Dimension®).
i. As amostras a cada nível foram analisadas em triplicado durante 20 dias. Os desvios padrão intra-ensaio e do intervalo diário foram calculados através do método da análise da variância.
j. Utilização do volume de amostra reduzido (13 µL).
k. A equação modelo para a estatística de regressão é a seguinte: resultados do sistema Dimension® = [declive x (resultados do método comparativo)] + intersecção.
l. A equação modelo para a estatística de regressão é a seguinte: Resultados do sistema Dimension® utilizando o volume de amostra reduzido (13 µL) = [declive x resultados do sistema Dimension® utilizando o volume de amostra padrão (31 µL)] + intersecção.
m. Intervalo das amostras: 0 – 16.3 mg/dL

Especificidade analítica

Consultar a secção sobre substâncias interferentes para obter pormenores.

Bibliografia

1. Doumas, BT, Perry, BW, Sasse, EA, et al., Standardization in bilirubin assays: Evaluations of selected methods and stability of bilirubin solutions, *Clin Chem* 1973; 19:984–993.
2. Jendrassik, L, Grof, P, Vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung des Blutbilirubin, *Biochem Z* 938; 297:81.
3. Tietz, NW, *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA 1986, pp 52–53 (techniques and procedures to minimize laboratory infections) and pp 478–497 (specimen collection and storage recommendations).
4. Henry, RJ, Cannon, DC, Winkelman, JD, *Clinical Chemistry, Principles and Techniques*, Harper and Row, New York, NY, 1974, pp 1058-1061.
5. Barbour, RL, Newman, RJ, Doumas, BT, Perry, BW, Jendrzejczak, BM, Katona, VR, An Evaluation of the Diazo Conjugated Bilirubin Method for the Du Pont aca® discrete clinical analyzer, DuPont, Wilmington, DE (October 1974).

Dimension® e Flex® são marcas registadas da Dade Behring Inc., no Gabinete de Patentes e Marcas Registadas dos E.U., na Alemanha e em muitos outros países.

* As secções revistas são anotadas com um asterisco.

Chave dos Símbolos

	Fabricado por
EC REP	Representante Autorizado
IVD	Dispositivo Médico para Diagnóstico *In Vitro*
LOT	Código do Lote
EXP YYYY-MM-DD	A data em "Utilizar antes de" encontra-se no formato ano-mês-dia (AAAA-MM-DD)
2°C 8°C	Limitação da Temperatura
CE	Marca CE
REF	Número de Catálogo
	Consulte as Instruções de Utilização

2001-12-13 PT

0800-170417
SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente
sac/brazil@dadebehring.com

Importado e distribuído por
DADE BEHRING LTDA.
Rua Geraldo Flausino Gomes, 61 - 1º Andar
Brooklin - São Paulo - SP - CEP 04575-060
Fone (11) 3371-3200 - Fax (11) 3371-3201
CNPJ: 00.897.408/0001-08
Resp. Téc.: Nanci A. Trindade
CRF - SP: 7.297

Dade Behring Inc.
Newark, DE 19714, U.S.A.

EC REP **Dade Behring Limited**
Regus House, Atterbury
Milton Keynes MK10 9RG
United Kingdom

2003-11 J PN 717025.001-PT